

Prof, dr hab. Janusz Błasiak
Katedra Genetyki Molekularnej
Uniwersytet Łódzki
Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

Łódź, 29 listopada 2021

Ocena

pracy doktorskiej mgr Katarzyny Bilińskiej

„Identyfikacja i znaczenie komórek podporowych w mechanizmie powstawania zaburzeń w węchu w chorobie COVID-19”

Zaburzenia węchu i smaku są jednymi z podstawowych wskaźników (markerów) infekcji SARS-CoV-2, wskaźnikiem bardzo użytecznym, bo możliwym do wykrycia w warunkach domowych, bez konieczności przeprowadzenia badań laboratoryjnych. Z drugiej strony, jest to wskaźnik o silnie subiektywnym charakterze. Dlatego uzasadnione jest szukanie mechanizmów prowadzących do zaburzeń węchu w COVID-19 i uzasadnione jest podjęcie tego tematu przez promotora, dr. hab. Rafała Butowtę, prof. UMK i doktorantkę mgr Katarzynę Bilińską.

Podstawą rozprawy doktorskiej mgr K. Bilińskiej jest 5 prac opublikowanych w latach 2020-2021 w *ACS Chemical Neuroscience* - 4 prace, IF 4,418, w dwóch z nich Doktorantka jest pierwszym autorem, w pozostałych dwóch - drugim; liczba autorów w dwóch z tych publikacji wynosi 2, w pozostałych dwóch - 3 i 4. Pierwszą pracą z cyklu publikacji stanowiącą podstawę rozprawy jest praca w *Frontiers in Cellular Neurosciences*, IF 5,505, w której mgr K. Bilińska jest pierwszym autorem w gronie trzech autorów. Do rozprawy dołączone są oświadczenia współautorów wszystkich publikacji wchodzących w jej skład o zakresie merytorycznym wykonywanych prac oraz procentowym udziale, z których wynika, że wkład Doktorantki w powstanie tych prac był dominujący (65-80%). Mamy zatem, a przynajmniej ja mam, bardzo jasny obraz wartości tej rozprawy - 5 prac o bardzo ważnej, nowej i aktualnej tematyce w czasopiśmie o IF > 4 z dominującym wkładem Doktorantki. Taki obraz w zasadzie upoważnia do sformułowania wniosku końcowego, bo nie zamierzam dokonywać superrecenzji tych prac, zakładając, że recenzja została przeprowadzona rzetelnie, a do takiego założenia skłania mnie renoma czasopiśm, w których zostały opublikowane. Sprawy pierwszorzędnej wagi wymagająca podkreślenia jest imponująca liczba cytowań dwóch spośród prac przedstawionych w rozprawie - publikacja *SARS-CoV-2: Olfaction, Brain Infection, and the Urgent Need for Clinical Samples Allowing Earlier Virus Detection* ma na dzień dzisiejszy 150 cytowań (baza Web of Science), a praca *Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age* 153. Prace te ukazały się odpowiednio w maju i czerwcu 2020.

Jak już wspominałem, nie uważam, aby rolę recenzenta rozprawy doktorskiej przedstawianej jako zbiór publikacji, było powtórne ich recenzowanie, ale z drugiej strony, oprócz ogólnej oceny wartości tych prac, zdecydowanej jest również przez rangę czasopiśm, w jakich zostały opublikowane, oraz

oceny udziału Doktorantki w ich powstaniu, uwa am za celowe podniesienie tych ich aspektów, które mog mie znaczenie dla oceny tych prac jako składowych pracy dyplomowej.

Praca „*SARS-CoV-2: Olfaction, Brain Infection, and the Urgent Need for Clinical Samples Allowing Earlier Virus Detection.*” autorstwa Butowt R i Bili ska K, opublikowana w *ACS Chem Neurosci* w 2020. Praca ta z formalnego punktu widzenia jest pracą przeglądową, jako e nie przedstawia wyników otrzymanych przez Autorów „na mokro”, to jest on prac jak najbardziej koncepcyjny i perspektywiczny i ma znacznie powa niejszy twórczy ni dokumentalistyczny aspekt, charakteryzuj cy niestety wiele prac przeglądowych. W pracy tej okre lano poziom ekspresji białek ACE2 i TMPRSS2 w komórkach nabłonka w chowego na podstawie prac innych autorów i warto ci dost pnych w bazach danych. Ko cowym i najwa niejszym wnioskiem z tej pracy było wskazanie nabłonka w chowego jako podstawowego miejsca docelowego wirusa SARS-CoV-2 i szybkiej diagnostyki COVID-19. Stworzenie tej pracy bardzo dobrze wiadczy o jej Autorach, a wi c tak e Doktorantce, b d c wiadectwem dojrzało ci w doborze tematyki, poprawno ci formułowania problemów i hipotez.

Praca *Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age* autorstwa Bili ska K, Jakubowska P, von Bartheld CS i Butowt R została opublikowana w *ACS Chem Neurosci* w 2020. W pracy tej dokonano analizy ekspresji białka ECE2 stanowi cego receptor dla SARS-CoV-2 w nabłonku w chowym i mózgu myszy. Oprócz tego badano ekspresj proteazy TMPRSS2. Zastosowano technik RT-qPCR w oparciu o RNA-seq, hybrydyzacj typu Western a tak e immunocytochemi , kolokalizacj i FISH. To bogactwo metod, w tym technik wysokoprzepustowych, jest bardzo dobrym wiadectwem poziomu pracy laboratoryjnej Doktorantki i opanowania przez Ni technik laboratoryjnych.

Nast pna praca *Expression of the ACE2 Virus Entry Protein in the Nervus Terminalis Reveals the Potential for an Alternative Route to Brain Infection in COVID-19* autorstwa Bili ska K, von Bartheld CS, Butowt R, została opublikowana w *Front Cell Neurosci* w 2021. W pracy tej Doktorantka wraz ze współautorami weryfikowała odwa na hipotez , e alternatywn do nerwu w chowego drog dotarcia wirusa SARS-CoV-2 mo e by migracja wzdłu neuronów nerwu ko cowego. Badania przeprowadzono technikami immunofluorescencji, kolokalizacj i hybrydyzacj typu Western. Otrzymane wyniki wst pnie potwierdziły mo liwo osi gni cia mózgu przez SARS-CoV-2 poprzez szlak nerwu ko cowego. Autorzy dokonali bardzo dobrej, wywa onej dyskusji otrzymanych wyników.

Nast pna praca *Chemosensory Dysfunction in COVID-19: Integration of Genetic and Epidemiological Data Points to D614G Spike Protein Variant as a Contributing Factor* autorstwa Butowt R, Bili ska K, von Bartheld CS została opublikowana w *ACS Chem Neurosci* w 2020. W tej koncepcyjnej pracy autorzy analizowali znaczenie mutacji D614G wirusowego białka kolca S na efekt ansomii wywoływanej przez SRAS-CoV-2. W pracy tej Doktorantka, wraz z innymi współautorami, dokonała przeglądu metaanalizy i wyników modelowania molekularnego dla potwierdzenia tezy, e mutacja D614G mo e by istotna dla utraty w chu i smaku zwi zanego z infekcj SARS-CoV-2. Dojrzała i wywa ona analiza wyników otrzymanych w innych o rodkach, w tym przy współpracy z zespołem Promotora.

Praca Anosmia in COVID-19: *A Bumpy Road to Establishing a Cellular Mechanism* autorstwa Bili ska K. i Butowt R została opublikowana w *ACS Chem Neurosci* w roku 2020. W pracy tej Autorzy analizuj mo liwe mechanizmy le ce u podstaw efektu zaburze smaku i w chu zwi zanego z infekcj SARS-CoV-2. W pracy tej Autorzy pokazali, jak nale y w sposób zwi zły przedstawia najnowsze fakty naukowe i wplata je w szerszy kontekst.

Zatem stosuj c tradycyjny podział na prace do wiadczalne i przegl dowe, mamy tutaj stosunek 3 do 2, a zatem, bior c pod uwag specyfik dyscypliny, stosunek jak najbardziej prawidłowy. Chciałbym przy tym podkre li , e owe prace przegl dowe s pracami koncepcyjnymi i perspektywicznymi, pracami jak najbardziej twórczymi i oryginalnymi. Tak, oryginalnymi i indywidualnymi.


Jak podkre lałem przy omawianiu poszczególnych publikacji, repertuar metod zastosowanych przez Autork w badaniach w swojej rozprawie doktorskiej jest bogaty: metody immunocytochemiczne wspomagane mikroskopi fluorescencyjn , metody wysokoprzepustowe: RNA-seq i NGS, ilo ciowa PCR w czasie rzeczywistym, analiza białek.

Publikacjom stanowi cym podstaw rozprawy doktorskiej towarzyszy obszernie opracowanie napisane w j zyku polskim, poza streszczeniem w j zyku angielskim. Jak napisałem, jest ono obszernie, za obszernie i po prawdzie nie wiem czemu ta obszerno ma słu y . To jakby geneza powstawania poszczególnych prac wchodz ych w skład rozprawy oraz ich szczegółowe omówienie. Owszem, interesuj ce, ale to praca dyplomowa, a nie dokumentalicyzna. Jednak e opracowanie to jest dobrze napisane, zarówno pod wzgl dem j zykowym, jak i merytorycznym i czyta si je z przyjemno ci . Podrozdział 4 - cele pracy - „poznanie genetycznych czynników...wpływa ych na cz sto wyst powania zaburze w chu” - ten cel został zrealizowany w niewielkiej cz ci i w zasadzie nale ało w celu wyspecyfikowa badan mutacj . Dalej nast puje streszczenie prac i ich interpretacja na tle pi miennictwa przedmiotu. I tu mam problem ze zrozumieniem celowo ci tej cz ci. Przecie zarówno pierwszy (streszczenie), jak i drugi element (interpretacja) znajduj si w pracach. Po co wi c to dublowanie. Oczywiście, cho prace zostały opublikowane w latach 2020 i 2021, w dynamicznie rozwijaj cej si wiedzy o COVID-19 opisano wiele nowych faktów zwi zanych z przedstawionymi faktami i stworzenie w rozprawie cz ci po wi conej interpretacji w wietle aktualnie istniej cego stanu wiedzy, byłoby bardziej celowe ni powielanie streszcze i wyników prac wchodz ych w skład rozprawy, co w du ej cz ci mam miejsce w przytoczonym opracowaniu. Podrozdział ten zawiera obszern (13 stron) cz 5.1 Wst p, który mógłby pozosta , bo stanowi bardzo dobre wprowadzenie w tematyk rozprawy, chocia lepiej prezentowałby si , gdyby pomini to mi dzy innymi ogólne wiadomo ci o białku ACE2 i modyfikuj cych je proteazach, ograniczaj c te wiadomo ci do bezpo rednio zwi zanych z COVID-19. Ale jeszcze raz podkre lam - zostało to bardzo dobrze napisane. W dalszej cz ci mamy przedstawiony opis prac stanowi cych podstaw rozprawy doktorskiej, jak Doktorantka uprzedziła „opis syntetyczny” - nie wiem, co miała na my li, ale dla mnie jest on zbyt obszerny. Powinien by esencjonalny - je eli Doktorantce zale ało na przedstawieniu istoty tych prac w j zyku polskim, to mogłoby by to jedynie poszerzone streszczenia, bez tak szczegółowego przedstawiania tego, co zostało osi gni te w tych pracach. Dalej mamy podrozdział 6. Wnioski i podsumowanie, przy wnioskach „nie zgadza si bilans”, bo

cele mamy w zasadzie 2, a wnioski - 4. Brak jest wniosku dotyczącego kwestionowanego przeze mnie celu „poznanie genetycznych czynników...wpływających na występowanie zaburzeń wchu”. Wniosek 4 ogranicza się do mutacji D614 G genu kodującego białko kolca S. Myślę, że należy unikać takich niejednoznacznych określeń, jak „raczej ograniczony neurotropizm”, czy „niewielkie prawdopodobieństwo”. Dalej mamy wykaz piśmiennictwa wykorzystywanego w pracy oraz skrupulatnie napisany 8. Wykaz skrótów zawierający głównie polskie i angielskie rozwinięcia akronimów. Podrozdział 9 to wykaz źródeł internetowych. Dalej mamy oświadczenia wszystkich współautorów wszystkich publikacji wchodzących w skład rozprawy, a ich kopie kości rozpraw.

Uważam, że rozprawa doktorska mgr Katarzyny Bilińskiej jest sukcesem naukowym jej promotora Pana Profesora Rafała Butowta i Jej samej. Największym osiągnięciem rozprawy jest przeprowadzenie oryginalnych badań, których wyniki mogą rzucić światło na wzajemne powiązania pomiędzy chorobą COVID-19 i jej syndromami, a obserwowanymi i potencjalnymi szlakami działania wirusa SARS-CoV-2. W takim kontekście szczególnie ważne wydaje się identyfikacja i określenie komórek podporowych opuszki w chowiej jako głównych elementów mechanizmów zaburzeń wchu zawiązanych z COVID-19. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę stanowią dobrą podstawę do kontynuowania badań nad dalszymi mechanizmami tego efektu, w szczególności przy użyciu innego niż myszy laboratoryjne, modelu eksperymentalnego. Podjęte tematyki rozprawy uważam za trafne i uzasadnione. Wyniki uzyskane przez Doktorantkę oraz ich interpretacja a także rozważania uzasadniają ce wag podjęte przez Ni problematyki zostały opublikowane w czasopiśmie mającym renomę międzynarodowej społeczności naukowej. Doktorantka zastosowała w swej pracy szereg nowoczesnych technik biologii molekularnej i to zastosowała ze znanostwem. Uważam, że rozprawa doktorska mgr Katarzyny Bilińskiej spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytułach naukowych oraz stopniach i tytułach w zakresie sztuki (Dz. U. z 2014 r. poz. 1852 oraz z 2015 r. poz. 249 i 1767). Dlatego wnoszę do Wysockiej Rady Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Zielonogórskiego w Zielonej Górze o dopuszczenie mgr Katarzyny Bilińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ze względu na to, że udział Doktorantki we wszystkich publikacjach stanowiących podstawę rozprawy jest zdecydowanie dominujący (65-80%), publikacje te są przeważnie dwuautorskie oraz 2 spośród tych publikacji zostały w przeciągu niespełna półtora roku cytowane ponad 150 razy każda, wnioskuje o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Bilińskiej.



Janusz Błasiak